

## CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE LA MICROFLORA AEROBIA PRESENTE EN EL TUBO DIGESTIVO DE LA BABA *CAIMÁN CROCODILUS CROCODILUS*

### *Biochemical characterization of the aerobic microflora present in the digestive tract of the slime Caiman crocodilus crocodilus*

Sonia Alvarado-Rico<sup>\*.1</sup> y Martha Casañas<sup>\*\*</sup>

<sup>\*.1</sup>Cátedra de Histología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela.

<sup>\*\*</sup> Postgrado en Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Apartado 4563, Maracay 2101 A, estado Aragua, Venezuela

Correo-E: [alvaradorico8@gmail.com](mailto:alvaradorico8@gmail.com)

Recibido: 20/04/19 - Aprobado: 09/10/21

#### RESUMEN

El reptil *Caiman crocodilus crocodilus* se distribuye ampliamente en ambientes silvestres venezolanos. Es importantísimo realizar investigaciones dirigidas a conservar este reptil, pues aportarían información relevante en investigación y ecología. Estudios microbiológicos en crocodílidos han determinado su susceptibilidad a enfermedades infecciosas, muchas veces originadas por un gran espectro de bacterias Gram negativas, que conviven en el ambiente acuático y son huéspedes naturales del tracto gastro intestinal (TGI). En cautiverio, bacterias, virus y hongos han sido aislados en crocodílidos, algunas con gran significado patológico, capaces de causar mortalidad. Se identificaron bioquímicamente, las especies bacterianas aeróbicas que constituyen la microflora del TGI del *Caiman crocodilus crocodilus* silvestre. Se capturaron en su ambiente natural, 6 ejemplares de esta subespecie, 3 de la Laguna de Oxidación de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, estado Aragua y 3 de la Laguna natural, ubicada en la Finca El Milagro, San Carlos, estado Cojedes. Se identificaron 84 muestras procedentes de los 6 ejemplares utilizados en este estudio, correspondientes a 5 segmentos del tubo

#### ABSTRACT

The reptile *Caiman crocodilus crocodilus* is widely distributed in Venezuelan wild environments. It is very important to carry out research aimed at conserving this reptile, as it would provide relevant information in research and ecology. Microbiological studies in crocodilians have determined their susceptibility to infectious diseases, often caused by a wide spectrum of Gram-negative bacteria, which coexist in the aquatic environment and are natural hosts of the gastrointestinal tract (GIT). In captivity, bacteria, viruses and fungi have been isolated in crocodilians, some with great pathological significance, capable of causing mortality. The aerobic bacterial species that constitute the microflora of the GIT of wild *Caiman crocodilus crocodilus* were identified biochemically. Six specimens of this subspecies were captured in their natural environment, three from the Oxidation Lagoon of the Faculty of Agronomy of the Universidad Central de Venezuela, Aragua State, and three from the natural lagoon, located in El Milagro Farm, San Carlos, Cojedes State. Eighty-four samples were identified from the six specimens used in this study, corresponding to five segments

<sup>1</sup> A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

digestivo, como: cavidad oral, esófago, estómago, duodeno y cloaca. Se produjo crecimiento bacteriano aerobio en todas las muestras, generándose 128 aislados. Se identificaron hasta 98,44% especies. En función de su afinidad por la tinción de Gram y su morfología microscópica, los aislados fueron predominantemente bacilos Gram negativos (71%) y menos numerosos los bacilos y cocos Gram positivos (29%). Se identificaron 27 especies pertenecientes a 9 familias y 18 géneros. La mayoría de aislados identificados pertenecen a la familia Enterobacteriaceae. Las bacterianas Gram negativas más frecuentes fueron *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* y de las Gram positivas, el *Enterococcus faecalis*. No hubo diferencias significativas entre las especies bacterianas identificadas en el TGI del *Caimán crocodilus crocodilus* silvestre, comparadas con los dos ambientes de extracción, exceptuando *Proteus vulgaris* y *Empedobacter brevis*.

**(Palabras clave:** Caracterización bioquímica; tracto digestivo; microflora aerobia; *Caiman crocodilus crocodilus*)

## INTRODUCCIÓN

La subespecie *Caiman crocodilus crocodilus* es un reptil que está ampliamente distribuido en los ambientes silvestres de nuestro país, por lo que tomando en cuenta la importancia económica, ecológica y científica de los crocodílidos en general, se considera necesario realizar estudios que generen conocimientos dirigidos a la conservación de esta especie [1, 2].

En cuanto al aspecto microbiológico, estudios realizados en miembros del Orden Crocodilia o crocodílidos, han determinado que los mismos son susceptibles a enfermedades infecciosas, en muchos casos originadas por un gran espectro de bacterias Gram negativas, que conviven en el ambiente acuático y son huéspedes naturales del tracto gastrointestinal. En condiciones de cautiverio, bacterias, virus y hongos han sido aislados en crocodílidos, algunas con gran significado patológico produciendo hasta mortalidad [3, 4].

El conocimiento de la flora bacteriana aerobia del tubo digestivo del *Caiman crocodilus crocodilus* es

of the digestive tract: oral cavity, esophagus, stomach, duodenum, and cloaca. Aerobic bacterial growth was produced in all samples, generating 128 isolates. Up to 98.44% species were identified. According to their affinity for Gram staining and microscopic morphology, the isolates were predominantly Gram-negative bacilli (71%) and less numerous Gram-positive bacilli and cocci (29%). Twenty-seven species belonging to 9 families and 18 genera were identified. Most of the isolates identified belonged to the Enterobacteriaceae family. The most frequent Gram-negative bacteria were *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* and of the Gram-positive ones, *Enterococcus faecalis*. There were no significant differences between the bacterial species identified in the GIT of wild *Caiman crocodilus crocodilus* compared to the two extraction environments, except for *Proteus vulgaris* and *Empedobacter brevis*.

**(Key words:** Biochemical characterization; digestive tract; microflora aerobia; *Caiman crocodilus crocodilus*)

escaso en Venezuela y en otros países del mundo. Las investigaciones relacionadas con la identificación de bacterias presentes en el tubo digestivo de miembros del orden *Crocodylia*, están limitadas en su mayoría a bacterias presentes en cavidad oral y cloaca de animales de vida cautiva y/o enfermos. Relacionado con este aspecto existen estudios en dos especies: el caimán americano (*Alligator mississippiensis*) y el caimán o yacaré overo (*Caiman latirostris*) [4].

En cuanto al aspecto sanitario-ocupacional, el conocimiento del posible agente causal de infecciones microbianas, transmitidas por *Crocodylianos* de manera accidental por la mordedura de cocodrilo a investigadores, veterinarios, cuidadores en zoológicos o visitantes, permitiría la aplicación directa de las medidas terapéuticas efectivas. [5-7].

Con base a lo anteriormente expuesto, esta investigación se centró en identificar por caracterización bioquímica las especies bacterianas aeróbicas que forman parte de la microflora presente en el tubo digestivo del *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre.

## MATERIALES Y METODOS

La presente investigación es de tipo exploratorio, ya que se trata de un tema relativamente desconocido como lo es la microflora bacteriana aeróbica presente en cada uno de los segmentos del tubo digestivo de la especie *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre y los resultados constituyen una visión aproximada en este tópico y, es descriptiva en tanto que se identificaron las especies bacterianas presentes. El diseño de la misma es de tipo no experimental y de campo, en el que se describen los fenómenos en la realidad, sin alterar las condiciones ni su contexto, los datos se obtuvieron de manera directa y confiable.

La población estuvo constituida por los ejemplares de la subespecie *Caiman crocodilus crocodilus* de los predios de la Laguna de Oxidación de la Facultad de Agronomía (LOUCVA) de la Universidad Central de Venezuela, estado Aragua y los predios de la Laguna natural ubicada en la Finca El Milagro, (LNHMC) San Carlos, estado Cojedes.

La muestra estuvo constituida por seis (06) ejemplares de la especie *Caiman crocodilus crocodilus* que fueron extraídos de su ambiente natural, tres (03) ejemplares de (LOUCVA) y tres ejemplares de (LNHMC), tomando en cuenta los siguientes criterios de exclusión: aquellos ejemplares que presentaron signos físicos y clínicos de enfermedad, tales como letargia, heridas importantes, coloración rosada en la superficie ventral, estomatitis, dermatitis, pérdida de piezas dentales, excesiva exposición al sol y anorexia.

La unidad de análisis se constituyó por las muestras bacteriológicas (contenidas en los hisopos) tomados de cavidad oral, esófago, estómago, duodeno y cloaca de cada uno de los ejemplares seleccionados de *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre. Dichos hisopados se tomaron de la siguiente manera:

Dos hisopados tomados en cavidad oral, esófago, estómago y cuatro hisopados en duodeno y cloaca, para un total de 14 hisopados o muestras bacteriológicas por ejemplar. En seis ejemplares el total de muestras bacteriológicas tomadas es igual a 84.

En cuanto a los dos ambientes de extracción de los ejemplares presentan características disimiles, allí se encontraron y posteriormente, capturaron los ejemplares muestreados, los mismos no estaban restringidos por lo que constituyen animales de vida libre o silvestre.

Predios de la Laguna natural ubicada en la Finca El Milagro, San Carlos, estado Cojedes. Laguna natural en predios de la Finca “El Milagro” con ubicación geográfica: latitud 9°10´04” N y longitud 68°25´00” O, altura 160 m.s.n.m.

Predios de la Laguna de Oxidación de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, estado Aragua. Planta de Tratamiento de Aguas Residuales provenientes de la Sección de Porcinos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela con ubicación geográfica: latitud 10° 16´ 20” N y longitud 67° 36´ 35” O, altura 443 m.s.n.m.

Para el cumplimiento del objetivo planteado en el presente trabajo de investigación el procedimiento a seguir se desarrolló en tres fases:

La primera fase consistió en la captura de los ejemplares y la toma de la muestra bacteriológica de los diferentes segmentos del tubo digestivo: cavidad oral, esófago, estómago, duodeno y cloaca de ejemplares de la subespecie *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre.

Todos los animales utilizados en este trabajo fueron tratados respetando las normas éticas que rigen el empleo de animales de investigación [8].

Se procedió a atraerlos mediante el empleo de un anzuelo con carnada, y a la captura de los animales con nudo corredizo, una vez capturados se procedió a cerrarle el hocico asegurándose a cada ejemplar atándole las patas dorsalmente y tapando sus ojos y oídos.

La evaluación física de cada ejemplar consistió en realizarles examen clínico en donde se evaluó sexo, comportamiento en términos de presencia o no de letargia, heridas importantes, coloración rosada en la superficie ventral, estomatitis, dermatitis, pérdida de piezas dentales, excesiva exposición al sol y anorexia. Se les asignó un código que registró datos como sexo, medida del hocico a la cola, fecha de captura y la denominación de estado clínico enfermo o sano, solo los ejemplares catalogados como ejemplares sanos fueron objeto de los posteriores estudios. Es de hacer notar que el tiempo transcurrido entre la captura del animal y su traslado a laboratorio de anatomía de la Cátedra de Anatomía de la FCV-UCV consistió en aproximadamente 25 min para los ejemplares de LAOUCV y para aquellos ejemplares procedentes del estado Cojedes transcurrió un tiempo aproximado de 5 h, hasta su llegada al laboratorio para proceder

de forma inmediata a la toma de muestras.

La necropsia se realizó a los ejemplares, previamente se procedió a la eutanasia con Tiopental Sódico en una dosis de 100mg/kg. Posteriormente, se realizó el abordaje de la cavidad abdominal para la toma de muestras de los diferentes segmentos del tubo digestivo mediante la técnica de necropsia empleada para estudios anatomopatológicos [9] y, modificada para la especie en estudio, se hizo el abordaje de la cavidad celómica mediante una incisión profunda en la región ventral con bisturí estéril, con el fin de separar mediante pinzas el sistema digestivo en su totalidad con la finalidad de aislar el segmento digestivo del resto del cuerpo. Una vez separada la porción del tracto digestivo, se le aplicó una solución de alcohol de 70° para desinfectar la parte externa, con la precaución de mantenerlo en posición horizontal para garantizar que la flora bacteriana permaneciera en cada uno de los segmentos del tracto digestivo, para lo cual se realizaron adicionalmente ligaduras con sutura estéril entre cada uno de los segmentos del tubo digestivo. La Figura 1, muestra los aspectos del procedimiento de captura, toma de muestra y de la necropsia de los ejemplares estudiados.

La toma de muestra bacteriológica se realizó con hisopos estériles, por duplicado para las muestras correspondientes a cavidad oral, esófago y estómago y por cuadruplicado para las muestras de duodeno y cloaca, en los seis ejemplares de la subespecie *Caiman crocodilus crocodilus*. En cavidad oral se tomó frotando entre los dientes, paladar y región gular. En la cloaca la muestra se obtuvo frotando la mucosa con el hisopo estéril externamente, es decir de afuera hacia adentro. Para acceder a esófago, estómago y duodeno, se le practicó una pequeña incisión de un (01) cm de longitud aproximadamente en la pared de cada órgano con material quirúrgico estéril, tomando en consideración el cambio de instrumentos para cada uno de los segmentos, asimismo el personal encargado de la toma de muestra trabajó con guantes estériles; luego, se introdujeron los hisopos estériles a través de dichas incisiones controlando en lo posible cualquier riesgo de contaminación y frotando los hisopos a la superficie mucosa de cada uno de los segmentos citados. Cada muestra se colocó en el medio de transporte Stuart (Difco) debidamente rotulada con la siguiente información: lugar de toma de muestra, fecha y código asignado al ejemplar del cual proceden. Las muestras fueron trasladadas en



**Figura 1.** Captura, toma de muestra y necropsia del *Caiman crocodilus crocodilus*

un contenedor térmico con hielo y almacenadas en un refrigerador a 25 °C, hasta su procesamiento.

Segunda fase, con la finalidad de establecer la capacidad de promoción del crecimiento de los diferentes medios de cultivo según sus capacidades selectivas y/o diferenciales se realizaron siembras

rutinarias a cada lote de nuevos medios con cepas ATTC:

ATTC 25922 *Escherichia coli*

ATTC 27853 *Pseudomonas aeruginosa*

ATTC 25923 *Staphylococcus aureus*

El control de calidad para el funcionamiento del equipo Microscan® se aplicó de acuerdo con las pautas específicas del fabricante.

En la tercera fase, las muestras tomadas de cada uno de los segmentos del tubo digestivo fueron sometidas a la siguiente metodología:

Procesamiento de las muestras obtenidas a partir de cavidad oral, esófago, estómago, duodeno y cloaca.

Siembra directa en medios sólidos: el primer hisopado tomado de la cavidad oral, esófago y estómago de cada uno de los ejemplares muestreados, se empleó para efectuar la siembra directa en los medios sólidos Agar sangre (AS), MacConkey y Levine. En el caso de los hisopados tomados de duodeno y cloaca fueron sembrados adicionalmente en medios Xilosa Lisina Deoxicolato (XLD) y *Salmonella shiguelia* (SS). Se incubaron todos los medios sólidos inoculados a 37°C por 24 h en condiciones de aerobiosis. El medio sólido Agar sangre ya inoculado (colocado en atmosfera enriquecida con CO<sub>2</sub>) se incubó a 37°C por 24 h.

El segundo hisopado a partir de duodeno y cloaca se inoculó en Caldo Tetrionato e incubó por 8 h a 37°C. Con el tercer hisopado se realizó siembra en sguia peptonada alcalina pH 8,4 y se incubó por 8 h a 37 °C en condiciones de aerobiosis.

Se procedió a inocular el medio sólido Tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS) a partir del sguia peptonada alcalina inoculada, por otro lado a partir del Caldo Tetrionato inoculado se sembró en los medios selectivos agar XLD y SS incubándose todos los medios sólidos ya sembrados a 37°C por 24 h en condiciones de aerobiosis.

El cuarto hisopado a partir de duodeno y cloaca y el segundo hisopado a partir de cavidad oral, esófago y duodeno, se inocularon en caldo tioglicolato en condiciones de aerobiosis, ya que en este trabajo se empleó con fines de conservación de las muestras.

Se evaluaron las características coloniales de los aislados en cada uno de los medios de cultivo tanto generales como selectivos y diferenciales, de acuerdo a la selectividad de cada uno.

Las colonias generadas en cada medio de cultivo fueron enumeradas y sometidas a tinción de *Gram*

separándose en grupos bacilos *Gram* negativos y bacilos y cocos *Gram* positivos.

Las colonias *Gram* negativas fueron resemebradas en medio sólido Cled y las colonias *Gram* positivas en Agar sangre (colocado en atmosfera enriquecida con CO<sub>2</sub>) e incubándose a 37°C por 24 h, con el fin de generar aislados puros y frescos.

La identificación de los aislados se realizó mediante el estudio de los resultados de las pruebas bioquímicas que se detallan a continuación: Para los bacilos *Gram* negativos, Figura 2, se empleó una batería de pruebas bioquímicas convencionales que incluyen: Oxidasa, Kligger, OF (oxidación-fermentación), Citrato, Malonato, Lisina y Ornitina decarboxilasa, Urea, SIM (Indol, Motilidad, Sulfuro de hidrogeno), Rojo de Metilo, Voges Proskauer, Fenilalanina desaminasa. Cada una de las pruebas fue incubada a 37°C por 18-24 h. Finalizado el tiempo de incubación se observaron los resultados de acuerdo a cada reacción bioquímica.

Los bacilos *Gram* negativos no fermentadores de la glucosa (BGNNF) se identificaron mediante las pruebas bioquímicas adicionales, para lo cual se utilizó el sistema semi-automatizado Microscan®.

Los aislados puros de cocos *Gram* positivos que fueron obtenidos a partir del medio de cultivo sólido de Agar sangre, se le realizaron las pruebas de catalasa, coagulasa, Dnasa, siembra en bilis esculina y en caldo salado 6,5% (Figura 3). Los cocos *Gram* positivos identificados hasta género, fueron sometidos a pruebas bioquímicas adicionales mediante el empleo del sistema semi-automatizado Microscan®.

Para los Bacilos *Gram* positivos aislados del medio de cultivo sólido Agar sangre y con morfología bacilar difteroides (corineiformes), se procedió a identificarlos hasta género mediante tinción de *Gram* [10].

Para la identificación de los aislados mediante metodología convencional se utilizaron los esquemas y tablas de diagnóstico propuestas por Koneman *et al.* [10] y Mac Faddin [11]. El sistema semi-automatizado Microscan® realizó la identificación a partir de la base de datos de pruebas bioquímicas del equipo.

En la determinación de la frecuencia de las diferentes especies bacterianas aeróbicas presentes en cavidad oral, esófago, estómago, duodeno y cloaca de la subespecie *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre se aplicó estadística descriptiva y, los resultados de las frecuencias ordenadas de

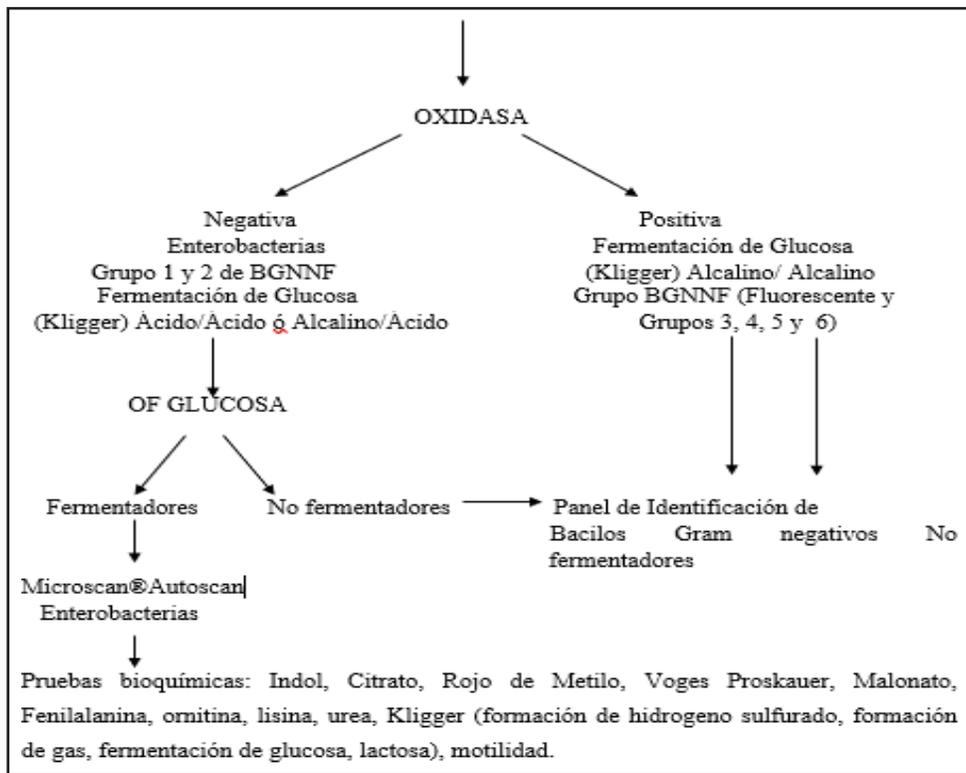


Figura 2. Identificación de bacilos Gram negativos

cada especie bacteriana en cada segmento fueron presentadas en cuadros.

En la comparación de la frecuencia de las especies bacterianas identificadas en la subespecie *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre en las dos localidades de extracción, se aplicó una prueba no paramétrica para evaluar si existe diferencias significativas entre la(s) especie(s) bacteriana (s) presentes o no con respecto al ambiente de procedencia de los animales. Se aplicó la distribución F o Prueba Exacta de Fisher con el paquete estadístico SAS V 8.0, adecuado para las muestras de pequeño tamaño.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En el presente estudio se realizó la identificación mediante características bioquímicas de ochenta y cuatro (84) muestras bacteriológicas procedentes de los seis (06) ejemplares de la subespecie *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre correspondientes a cinco (05) segmentos del tubo digestivo (cavidad oral, esófago, estómago, duodeno y cloaca).

Se evidenció crecimiento bacteriano aerobio a partir de cada una de las muestras, de las cuales se logró identificar especies en el 98,44% de los

aislados (n=126), ya que en dos aislados del género *Corynebacterium* no se identificó especie.

De acuerdo con su afinidad tintorial a la coloración de Gram y su morfología microscópica, los aislados fueron predominantemente bacilos Gram negativos (71%) y menos numerosos los bacilos y cocos Gram positivos (29%). Estos resultados, coinciden con los hallazgos de quienes aislaron bacterias Gram negativas (100%) en muestras cloacales de caimanes blanco (*Caiman Crocodilus*) de vida libre en el río Madre de Dios Tambopata Perú [12].

Los aislados Bacilos Gram negativos Fermentadores fueron identificados hasta especie, empleando la metodología convencional y, para el resto de los aislados (Cocos Gram Positivos y Bacilos Gram negativos no fermentadores), se empleó la metodología semi automatizada que proporciona el Microscan® debido al mayor número de substratos y pruebas bioquímicas que el mismo provee.

La mayoría de las bacterias identificadas en el tubo digestivo de la especie *Caiman crocodilus crocodilus*, corresponden a bacilos Gram negativos fermentadores (85,7%) lo cual coincide con los estudios bacteriológicos realizados en investigaciones en las especies pertenecientes a la subfamilia

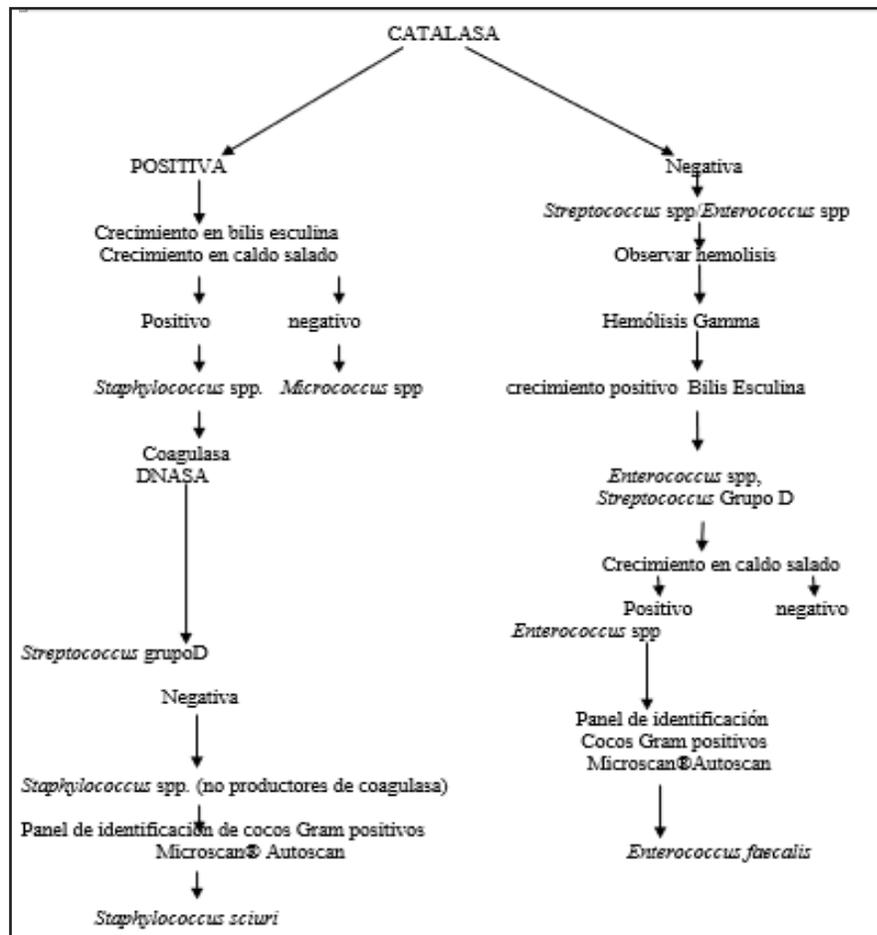


Figura 3. Identificación de cocos Gram positivos aerobios

Crocodylinae: *Crocodylus acutus*, *Crocodylus niloticus* y *Osteolaemus tetraspis* respectivamente [5, 13].

Las especies bacterianas Gram negativas identificadas en este estudio como lo son *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* son las de mayor frecuencia 15 y 13, respectivamente; Cuadro 1.

El Cuadro 2 presenta la frecuencia de las especies bacterianas Gram positivas identificadas en el tubo digestivo del *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre.

En cuanto a las especies Gram positivas halladas, se puede observar que *Enterococcus faecalis* fue la de mayor frecuencia (22). La presencia de los géneros *Corynebacterium* en el tubo digestivo del *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre coincide con lo reportado en la especie *Caiman latirostis* y hallado por en el *Alligator mississippiensis*; sin embargo, en esta última especie fueron identificados a partir de cultivos de sangre y tejidos en animales septicémicos [4, 14]. Por su parte, Aguillón *et al.* [15] identificó otras especies Gram positivas en cloaca de reptiles

de pequeño tamaño como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* spp. no halladas en el presente estudio. En la literatura revisada, existen escasos estudios donde determinen la presencia de especies bacterianas Gram positivas en el tubo digestivo de especies relacionadas al orden Crocodylia, posiblemente sea debido al hecho que los estudios en estas especies animales se centran en identificar posibles patógenos que expliquen los cuadros clínicos compatibles con infecciones bacterianas, siendo los bacilos Gram negativos de tipo entérico los que se asocian más frecuentemente con comportamiento patógeno, generalmente asociados con infecciones secundarias y/o en situaciones de estrés que se generan en estos animales y cambios en su sistema inmunológico desencadenando otras patologías.

El cuadro 3 muestra las especies bacterianas presentes en el tubo digestivo del *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre. Se identificaron en total 26 especies bacterianas pertenecientes a 10 familias y 18 géneros. La familia con mayor número de especies

**Cuadro 1.** Frecuencia de especies Gram negativas presentes en tubo digestivo de *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre

Género	Especie	Frecuencia
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	15
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i>	13
<i>Proteus</i>	<i>mirabilis</i>	4
	<i>vulgaris</i>	6
<i>Citrobacter</i>	<i>freundii</i>	8
	<i>diversus</i>	2
<i>Serratia</i>	<i>liquefaciens</i>	7
	<i>marcescens</i>	1
<i>Enterobacter</i>	<i>aerogenes</i>	1
	<i>agglomerans</i>	3
	<i>cloacae</i>	2
<i>Edwardsiella</i>	<i>tarda</i>	5
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	4
<i>Providencia</i>	<i>stuartii</i>	2
	<i>rettgeri</i>	2
<i>Aeromonas</i>	<i>salmonicida</i>	1
	<i>hydrophila</i>	4
<i>Empedobacter</i>	<i>brevis</i>	4
<i>Stenotrophomonas</i>	<i>maltophilia</i>	3
<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>	2
<i>Acinetobacter</i>	<i>lwoffii</i>	2
Total	21	91

**Fuente propia:** Datos obtenidos durante la investigación (UCV)

**Cuadro 2.** Frecuencia de géneros/especies Gram positivos presentes en tubo digestivo del *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre

Género	Frecuencia	Especie (s)	Frecuencia
<i>Staphylococcus</i>	9	<i>sciuri</i>	8
		<i>hyicus</i>	1
<i>Enterococcus</i>	23	<i>faecalis</i>	22
		<i>avium</i>	1
<i>Bacillus</i>	3	<i>subtilis</i>	3
<i>Corynebacterium</i>	2	spp	2
Total			37

**Fuente propia:** Datos obtenidos durante la investigación (UCV)

identificadas fue la *Enterobacteriaceae* (nueve géneros y 15 especies).

La variabilidad de especies identificadas y el hecho de que la mayoría pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* era de esperarse debido que los integrantes de la misma están distribuidos en la naturaleza de una forma amplia en los suelos y el agua y dentro del tracto gastro intestinal de seres humanos y animales.

En cuanto al resto de las familias bacterianas identificadas, se destacan que miembros de la familia *Aeromonadaceae*, *Enterococcaceae* y *Pseudomonadaceae* identificadas en el presente estudio coincidieron con los hallazgos de un estudio realizado en cavidad oral de *Crocodylus acutus* aparentemente sanos [5].

Los hallazgos de representantes de las familias *Aeromonadaceae*, *Bacillaceae* *Corynebacteriaceae* identificadas en el presente trabajo coinciden con lo reportado por Williams *et al.* [16] en las glándulas gular y/o paraoccal de *Alligator mississippiensis* y en cuanto a miembros de la familia *Moraxellaceae* y al género *Staphylococcus* hallados en el presente estudio coinciden con lo reportado en aislados realizados en cloaca de reptiles de pequeño tamaño [15]. Sin embargo, se debe considerar el hecho de que los ejemplares de reptiles evaluados por estos investigadores corresponden a especies distintas, las muestras estudiadas son en su mayoría de un único sector corporal o proceden de animales enfermos.

El Cuadro 4 presenta la proporción de cada especie bacteriana con respecto al total de aislados (n=128). Se observa que la especie bacteriana más comúnmente aislada fue *Enterococcus faecalis* correspondiendo a 17,2%, seguido de la especie *Escherichia coli* que corresponde a 11,7% y *Klebsiella pneumoniae* 10,2%. El género *Enterococcus* spp. correspondió igualmente al de mayor ponderación porcentual en el estudio llevado a cabo en *Crocodylus intermedius* tanto en materia fecal como en hisopado cloacal de neonatos de esta especie [17].

Las especies aisladas con menor proporción fueron *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus hyicus*, *Aeromonas salmonicida* y *Enterococcus avium*, con un único aislado cada una.

Frecuencia de las especies bacterianas presentes en cavidad oral, esófago, estómago, duodeno y cloaca de *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre.

**Cuadro 3.** Familias, géneros y especies identificados en tubo digestivo de *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre

Familias	Géneros	Especies
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
		<i>Citrobacter diversus</i>
	<i>Providencia</i>	<i>Providencia rettgerii</i>
		<i>Providencia stuartii</i>
	<i>Edwarsiella</i>	<i>Edwarsiella tarda</i>
	<i>Proteus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
		<i>Proteus mirabilis</i>
	<i>Morganella</i>	<i>Morganella morganii</i>
	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
		<i>Enterobacter agglomerans</i>
		<i>Enterobacter aerogenes</i>
	<i>Serratia</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>
<i>Serratia marcescens</i>		
<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Xanthomonadaceae	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
Aeromonadaceae	<i>Aeromonas</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>
		<i>Aeromonas salmonicida</i>
Flavobacteriaceae	<i>Empedobacter</i>	<i>Empedobacter brevis</i>
Enterococcaceae	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		<i>Enterococcus avium</i>
Micrococcaceae	<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>
		<i>Staphylococcus hyicus</i>
Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i> spp	-----
Total 10	18	26
<b>Fuente propia:</b> Datos obtenidos durante la investigación (UCV)		

**Cuadro 4.** Proporción de especies bacterianas presentes en tubo digestivo de *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre

Especie bacteriana	Proporción (%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	17,2
<i>Escherichia coli</i>	11,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10,2
<i>Staphylococcus sciuri</i>	6,25
<i>Citrobacter freundii</i>	6,25
<i>Serratia liquefaciens</i>	5,50
<i>Proteus vulgaris</i>	4,70
<i>Edwarsiella tarda</i>	3,90
<i>Proteus mirabilis</i>	3,10
<i>Empedobacter brevis</i>	3,10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,10
<i>Aeromonas hydrophila</i>	3,10
<i>Enterobacter agglomerans</i>	2,34
<i>Bacillus subtilis</i>	2,34
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2,34
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,56
<i>Providencia stuartii</i>	1,56
<i>Morganella morganii</i>	1,56
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1,56
<i>Providencia rettgerii</i>	1,56
<i>Corynebacterium</i> spp.	1,56
<i>Citrobacter diversus</i>	1,56
<i>Enterococcus avium</i>	0,78
<i>Staphylococcus hyicus</i>	0,78
<i>Serratia marcescens</i>	0,78
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0,78
<i>Aeromonas salmonicida</i>	0,78
Total especies (26)	100
<b>Fuente propia:</b> Datos obtenidos durante la investigación (UCV).	

**Cavidad oral**

Las especies bacterianas aisladas e identificadas en cavidad oral de la subespecie *Caiman crocodilus crocodilus* están reflejados en el Cuadro 5. Se identificaron 21 aislados bacterianos correspondientes a 12 especies. Es notorio que la especie *Enterococcus faecalis* corresponde a la de mayor frecuencia y

su ubicación en la cavidad oral es de importancia clínica, debido a que los enterococos en general constituyen un género de bacterias destacados por su capacidad para adquirir resistencias a tetraciclinas, eritromicina, cloranfenicol, trimetoprim, aminoglicósidos, penicilinas y algunos autores han señalado que una posible ruta de transmisión de los

determinantes genéticos de resistencia a vancomicina, ha ocurrido desde los animales a los humanos, vía cadena alimentaria, así mismo, en caso de algún accidente por mordedura de este animal podría tener implicaciones terapéuticas en medicina humana [18]. La presencia en cavidad oral de la especie bacteriana *Aeromonas hydrophila*, la cual se aisló e identificó solo en 1 de los 6 animales muestreados, coincide con los hallazgos de quienes obtuvieron solo un aislamiento en cavidad oral de *Crocodylus acutus* adultos [5] y con quienes reportaron un 85% de aislamiento de esta especie a partir de las cavidades orales de *Alligator mississippiensis* que murieron sin causa conocida [19]. Estas especies han sido conocidas como causantes de infecciones en animales poiquiloterms tales como peces, reptiles y anfibios [20] e infecciones severas en humanos tales como gastroenteritis, peritonitis, septicemia e infección de heridas [21], constituyéndose en patógeno para individuos inmunológicamente susceptibles que sufran heridas por mordedura de este reptil. Se identificaron otras especies tales como *Citrobacter freundii* y *Enterobacter agglomerans*, lo cual coincide con Williams *et al.* [16] quienes aislaron las mismas especies en glándula gular de *Alligator mississippiensis* aparentemente sanos. Estos autores difieren del presente estudio en el hallazgo de otras especies bacterianas en la misma cavidad, tales como

*Acinetobacter anitratus*, *Flavobacterium gleum*, *F. multivorum*, *Hafnia alvei*, *Pseudomonas cepacia* y *Yersinia enterocolitica*. Algunas de las especies identificadas en el presente estudio (*Citrobacter freundii* y *Enterobacter agglomerans*) fueron relacionadas con procesos septicémicos en *Alligator mississippiensis* [22]. En el presente estudio se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en la cavidad oral del *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre, bacterias de este género han sido reportadas también en cavidad oral del *Crocodylus acutus*, lo cual constituye un hallazgo importante en relación con infecciones zoonóticas [5].

### Esófago

El Cuadro 6 refleja la frecuencia de las especies bacterianas presentes en esófago del *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre. En este estudio se identificaron 30 aislados pertenecientes a 15 especies bacterianas presentes en el esófago, de las cuales nueve (60%) corresponden a las identificadas en cavidad oral. La especie con mayor frecuencia correspondió a *K. pneumoniae*. Las especies *Enterococcus avium*, *Enterobacter agglomerans*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida* y *Acinetobacter lwoffii* presentaron la menor frecuencia. En la revisión de literatura no se encontraron estudios relacionados a la identificación bacteriológica de microorganismos en este segmento.

### Estómago

El Cuadro 7 presenta las especies bacterianas identificadas en el estómago de *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre. Se identificaron 25 aislados correspondientes a 13 especies bacterianas. Se evidencia que las especies con mayor frecuencia son *Escherichia coli*, *Staphylococcus sciuri*, *Enterococcus faecalis* y *Edwardsiella tarda* (12% al 20%). No se conocen reportes en la literatura respecto a la flora normal en estómago de esta subespecie animal de vida silvestre. La presencia de la especie bacteriana *Escherichia coli* y el género *Klebsiella* en el estómago de *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre, sin signos clínicos de enfermedad, coinciden con la información recopilada en *Caiman intermedius* y *Crocodylus acutus* mantenidos en zocriaderos y con presencia de patologías de onfalitis, deficiencias nutricionales y síndrome de las crías [3], difiriendo con el presente trabajo en que no se identificó

Cuadro 5. Frecuencia de especies bacterianas presentes en Cavidad Oral del <i>Caiman crocodilus crocodilus</i> de vida silvestre	
Especies bacterianas	Frecuencia
<i>Enterococcus faecalis</i>	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
<i>Proteus vulgaris</i>	2
<i>Citrobacter freundii</i>	2
<i>Empedobacter brevis</i>	2
<i>Escherichia coli</i>	1
<i>Serratia liquefasciens</i>	1
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1
<i>Edwardsiella tarda</i>	1
<b>Total</b>	21
<b>Fuente propia:</b> Datos obtenidos durante la investigación (UCV)	

<b>Cuadro 6.</b> Frecuencia de especies bacterianas presentes en Esófago de <i>Caiman crocodilus crocodilus</i> de vida silvestre	
Especies bacterianas	Frecuencia
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5
<i>Enterococcus faecalis</i>	3
<i>Escherichia coli</i>	3
<i>Citrobacter freundii</i>	3
<i>Proteus vulgaris</i>	2
<i>Empedobacter brevis</i>	2
<i>Citrobacter diversus</i>	2
<i>Serratia liquefasciens</i>	2
<i>Staphylococcus sciuri</i>	2
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1
<i>Aeromonas salmonicida</i>	1
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1
<i>Enterococcus avium</i>	1
Total cepas	30
<b>Fuente propia:</b> Datos obtenidos durante la investigación (UCV)	

*Pseudomonas aeruginosa* en este segmento del tubo digestivo. como lo reportaron en la investigación .

### Duodeno

En el duodeno del *Caiman crocodilus crocodilus* se observa una distribución de frecuencias más homogénea, dado que 13 especies: *Bacillus subtilis*, *Providencia rettgerii*, *Aeromonas hydrophila*, *Stenotrophomona maltophilia*, *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, *Serratia liquefasciens*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus vulgaris* tienen la misma frecuencia a excepción de las especies *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis* que se constituyeron en las predominantes en este segmento (Cuadro 8). Los hallazgos de las especies *Serratia liquefasciens*, *Aeromonas hydrophila* y *Bacillus subtilis* en este segmento son similares con los reportes en el *Alligator mississippiensis* que presentaban signos de declinación, hallados a partir de sangre de esos animales [14]. La presencia de la especie *Escherichia coli* y los géneros *Enterobacter* y *Klebsiella* coinciden con lo reportado en *Caiman intermedius* y *Crocodylus acutus* mantenidos en cautividad en zoológicos y con presencia de patologías tales como: onfalitis, deficiencias nutricionales y síndrome de las crías [3];

<b>Cuadro 7.</b> Frecuencia de especies bacterianas presentes en estómago de <i>Caiman crocodilus crocodilus</i> de vida silvestre	
Especies bacterianas	Frecuencia
<i>Escherichia coli</i>	5
<i>Staphylococcus sciuri</i>	4
<i>Enterococcus faecalis</i>	4
<i>Edwardsiella tarda</i>	3
<i>Proteus mirabilis</i>	1
<i>Proteus vulgaris</i>	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
<i>Citrobacter freundii</i>	1
<i>Serratia liquefasciens</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1
<i>Providencia stuartii</i>	1
<i>Staphylococcus hyicus</i>	1
<i>Bacillus subtilis</i>	1
Total	25
<b>Fuente propia:</b> Datos obtenidos durante la investigación (UCV)	

sin embargo, no se identificaron en este segmento del tubo digestivo miembros del género *Salmonella*, la cual fue identificada y reportada por dichos investigadores en intestino delgado.

En el Cuadro 9 se observa que en cloaca se recuperaron 30 cepas bacterianas donde hay predominancia de *Enterococcus faecalis* (20%), *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* cada una con 10%, en segundo lugar las especies *Staphylococcus sciuri* y *Serratia liquefasciens* cada una con 6,67% y el resto de especies (14) en una proporción homogénea de 3,33%. Es de hacer notar que la especie *Serratia marcescens* se recuperó solo en este segmento. Con respecto a las especies identificadas en cloaca en el *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre, 2 especies (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*,) son coincidentes con los hallazgos en muestras cloacales de caimanes blanco (*Caiman crocodilus*) de vida libre en el río Madre de Dios Tambopata Perú [12].

Análisis de frecuencia de especies bacterianas presentes en tubo digestivo de la especie *Caiman crocodilus crocodilus* según ambiente de extracción:

El cuadro 10 presenta las especies bacterianas identificadas en el tubo digestivo de la especie *Caiman crocodilus crocodilus* en cada uno de los ambientes de extracción: Laguna de Oxidación de la Sección de Porcinos de la Facultad de Agronomía

<b>Cuadro 8.</b> Frecuencia de especies bacterianas presentes en duodeno de <i>Caiman crocodilus crocodilus</i> de vida silvestre	
Especies bacterianas	Frecuencia
<i>Enterococcus faecalis</i>	5
<i>Escherichia coli</i>	3
<i>Proteus mirabilis</i>	2
<i>Proteus vulgaris</i>	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
<i>Citrobacter freundii</i>	1
<i>Serratia liquefaciens</i>	1
<i>Morganella morganii</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1
<i>Providencia rettgerii</i>	1
<i>Bacillus subtilis</i>	1
Total	20
<b>Fuente propia:</b> Datos obtenidos durante la investigación (UCV)	

Universidad Central de Venezuela (LOUCVA) y Laguna Natural de la Hacienda El Milagro Estado Cojedes (LNHMC).

En el tubo digestivo de la especie *Caiman crocodilus crocodilus* provenientes de LOUCVA se identificaron 12 especies bacterianas: *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia liquefaciens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Edwardsiella tarda*, *Providencia rettgerii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus sciuri*, *Enterococcus faecalis* y *Bacillus subtilis*, para un total de 25 aislados identificados y provenientes de los diferentes segmentos estudiados del tubo digestivo de esta subespecie animal, predominando los aislados Gram negativos (68%), sobre los Gram positivos (32%). Entre las bacterias Gram negativas las Fermentadoras estuvieron presentes en el orden del 76,5% respecto a las no fermentadoras 23,5%.

En el tubo digestivo de la especie *Caiman crocodilus crocodilus* provenientes de LNHMC, se identificaron 17 especies bacterianas: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Serratia liquefaciens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella tarda*, *Acinetobacter lwoffii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus*

<b>Cuadro 9.</b> Frecuencia de especies bacterianas presentes en Cloaca de <i>Caiman crocodilus crocodilus</i> de vida silvestre	
Especies bacterianas	Frecuencia
<i>Enterococcus faecalis</i>	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3
<i>Escherichia coli</i>	3
<i>Staphylococcus sciuri</i>	2
<i>Serratia liquefaciens</i>	2
<i>Citrobacter freundii</i>	1
<i>Serratia marcescens</i>	1
<i>Morganella morganii</i>	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1
<i>Providencia stuartii</i>	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1
<i>Edwardsiella tarda</i>	1
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1
<i>Providencia rettgerii</i>	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
<i>Bacillus subtilis</i>	1
Total	29
<b>Fuente propia:</b> Datos obtenidos durante la investigación (UCV).	

*sciuri*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus avium* y *Staphylococcus hyicus*. Las especies bacterianas Gram negativas se obtuvieron en mayor porcentaje (85,7%) que las Gram positivas (14,3%), asimismo las bacterias Gram negativas fermentadoras fueron las más predominantes (16,7%).

Es de hacer notar la mayor variabilidad de especies bacterianas identificadas en el tubo digestivo de los ejemplares extraídos de LNHMC (n=23), respecto al número de especies bacterianas identificadas (n=12) en el tubo digestivo de los ejemplares procedentes de LOUCVA; sin embargo, en ambos casos se mantuvo la mayor proporción de bacterias Gram negativas fermentadoras. Las especies *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia liquefaciens*, *Edwardsiella tarda*, *Staphylococcus sciuri* y *Enterococcus faecalis* estuvieron presentes

**Cuadro 10.** Frecuencia de las especies bacterianas aerobias presentes en el tubo digestivo de *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre según ambiente de procedencia

Especie	LOUCVA	LNHMC	Total
<i>Escherichia coli</i>	3	3	6
<i>Proteus mirabilis</i>	1	2	3
<i>Proteus vulgaris</i>	0	2	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	3	6
<i>Citrobacter freundii</i>	3	2	5
<i>Citrobacter diversus</i>	0	2	2
<i>Serratia liquefaciens</i>	1	3	4
<i>Serratia marcescens</i>	0	1	1
<i>Morganella morganii</i>	0	1	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	1	1
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0	2	2
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	2	2
<i>Providencia stuartii</i>	0	1	1
<i>Empedobacter brevis</i>	0	2	2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1	2
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0	2	2
<i>Aeromonas salmonicida</i>	0	1	1
<i>Edwardsiella tarda</i>	1	2	3
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	0	2	2
<i>Providencia rettgerii</i>	1	0	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	1	4
<i>Staphylococcus sciuri</i>	3	2	5
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	3	6
<i>Staphylococcus hyicus</i>	0	1	1
<i>Bacillus subtilis</i>	2	0	2

**Fuente propia:** Datos obtenidos durante la investigación (UCV)

en los ejemplares extraídos de ambos ambientes, por el contrario, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Providencia stuartii*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida* y *Staphylococcus hyicus*, se identificaron únicamente a partir del tubo digestivo de *Caiman crocodilus crocodilus* extraídos de LNHMC, contrariamente al menor número de especies (*Providencia rettgerii* y *Bacillus subtilis*) que solo fueron aisladas a partir del tubo digestivo de *Caiman crocodilus crocodilus* extraído de LOUCVA.

**Análisis de significación estadística de acuerdo a la localidad de extracción**

a.-Análisis de dependencia de especies bacterianas presentes entre ejemplares de cada localidad.

Se demostró independencia estadística en cuanto a la presencia de la mayoría de las especies bacterianas identificadas entre los ejemplares extraídos de cada localidad a excepción de la dependencia estadística presente en la especie *Escherichia coli* (Pvalor= 0,0833), observándose diferencias entre los ejemplares 1 y 2 con mayor proporción en el ejemplar 2 (60%) respecto al ejemplar 1 (no hubo presencia) y entre los ejemplares 1 y 3 donde la misma especie bacteriana está en mayor proporción en el ejemplar 3. Existiendo igual comportamiento entre los ejemplares 2 y 3. En cuanto a la especie bacteriana *Proteus vulgaris*, se demostró dependencia estadística entre ejemplares 1 (100% presencia) y 2 (20% presencia) (Pvalor =0,0476).

En vista de los resultados y dada la homogeneidad de los mismos sugiere que las especies bacterianas identificadas a nivel del tubo digestivo del *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre son independientes de los individuos, con excepción de las especies bacterianas *Escherichia coli* y *Proteus vulgaris*.

b.-Análisis para evaluar dependencia entre las especies bacterianas identificadas y los ambientes de extracción de los ejemplares.

En el análisis para evaluar la dependencia en las bacterias identificadas y los ambientes de extracción de los ejemplares muestreados se demostró estadísticamente que no existe asociación entre estos excepto para las especies:

- *Proteus vulgaris*: No estuvo presente en los ejemplares extraídos de LOUCVA, respecto a lo hallado en los ejemplares obtenidos de la LNHMC, en el cual estuvo presente en un 66% de los ejemplares (Pvalor=0,0169). Por lo tanto, se demostró dependencia estadística en cuanto a la presencia de esta especie en relación con el ambiente de extracción.

-*Empedobacter brevis*: no estuvo presente en ejemplares provenientes de LOUCVA y estuvo presente en un 66,7% de los ejemplares provenientes de LNHMC (Pvalor=0,0996).

## CONCLUSIONES

Los resultados generados contribuyen a aportar una información relevante y útil para el diseño e implementación de programas de aprovechamiento sustentable y conservación de la especie en nuestro país.

En el estudio realizado en la microflora del tubo digestivo en seis ejemplares de *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre se obtuvieron 128 aislados, identificándose 27 especies bacterianas.

Se identificaron 27 especies pertenecientes a 9 familias y 18 géneros. El mayor número de aislados identificados pertenecen a la familia Enterobacteriaceae. Las especies bacterianas Gram negativas más frecuentes fueron *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* y la especie Gram positiva con mayor frecuencia fue *Enterococcus faecalis*.

Las especies bacterianas aerobias presentes en mayor número de sectores del tubo digestivo de *Caiman crocodilus crocodilus* fueron *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Klebsiella pneumoniae* (6/6), *Citrobacter freundii* (5/6) y *Serratia liquefaciens* (4/6).

Las especies bacterianas aerobias presentes solo en esófago de *Caiman crocodilus crocodilus* fueron *Citrobacter diversus* (2/6), *Aeromonas salmonicida* (1/6) y *Enterococcus avium* (1/6).

*Staphylococcus hyicus* es la especie aerobia aislada únicamente a partir de estómago de *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre de un solo ejemplar.

*Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes* y *Pseudomonas aeruginosa* corresponden a las especies bacterianas aerobias identificadas solo en las muestras provenientes de cloaca de *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre.

*Morganella morganii*, *Providencia rettgerii* y *Bacillus subtilis*, fueron aisladas en estómago y duodeno. La especie *Bacillus subtilis* se aisló además en cloaca de un solo ejemplar.

No se determinaron diferencias significativas, de acuerdo a los resultados de naturaleza estadística, entre las especies bacterianas identificadas en el tubo digestivo de *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre en relación con los dos ambientes de extracción, exceptuando las especies *Proteus vulgaris* y *Empedobacter brevis*.

La presencia de especies bacterianas potencialmente patógenas a humanos como *Aeromonas hydrophila* y

*Klebsiella pneumoniae* en el tubo digestivo de *Caiman crocodilus crocodilus* pueden representar un riesgo para los manipuladores de esta subespecie animal, así como para los consumidores de subproductos.

## RECOMENDACIONES

Se deben continuar estudios más amplios conducentes a determinar en forma concluyente las especies bacterianas aerobias y anaerobias que conforman la flora normal del tubo digestivo de *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre.

Continuar estudios microbiológicos amplios, con el fin de ejercer una vigilancia epidemiológica activa sobre el *Caiman crocodilus crocodilus* de vida silvestre, con fines de conservación de la subespecie y evaluar el riesgo zoonótico que constituye la misma, para las poblaciones humanas rurales.

En caso de identificar bacterias potencialmente patógenas en el tubo digestivo u otro órgano de esta subespecie animal, se recomienda la determinación de patrones de sensibilidad a los antimicrobianos, por el riesgo zoonótico que ellas representan.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Profesora Raquel Céspedes de la Cátedra de Anatomía por toda la colaboración prestada para la realización de este trabajo de investigación y a El Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la UCV (CDCH-UCV) por el apoyo económico (PG-11-8159-2011-1).

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Espinosa-Blanco A, Vargas-Clavijo M. Los crocodylia en el patrimonio zoocultural venezolano: implicaciones para el manejo y conservación de las especies. Bol. Acad. C. Fís., Mat. y Nat. 2014; LXXIV No. 2. 15-27.
2. Balaguera-Reina S, Farfán N, Vides A, Carvajal-Bonilla L. Protección y conservación de especies amenazadas Ecology and conservation of crocodylians in Colombia Spatial ecology, phylogeography, and conservation of biodiversity Conservando el caimán aguja. Plan para su conservación, manejo y uso sostenible en el sector nororiental del departamento del Magdalena 978-958-754-319-3 Publisher: Universidad de Ibagué 2019. p 90.
3. Boede, E., Sogbe E. Enfermedades en Caimanes del

- Orinoco (*Crocodylus intermedius*) y Caimanes de la Costa (*Crocodylus acutus*) Mantenedos en Zoológicos Venezolanos. Revista Científica, FCV-LUZ. 2000; 10, 328-338.
4. Silva, J., Mota, R., Pinheiro, J., Almeida, M., Silva, D., Ferreira, D., Azevedo, J. Aerobic Bacterial Microflora Of Broad-Snouted Caiman (*Caiman latirostris*) Oral Cavity And Cloaca, Originating From Parque Zoológico Arruda Câmara, Paraíba, Brazil. Braz J Microbiol. 2009; 40, 194-198.
  5. Cupul-Magaña, F., Delgado, A., Reyes, A. La mordida del cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*), ¿es potencialmente séptica? Rev. Biomed. 2005; 16, 65-67.
  6. Delene K, Lemma A, Fesseha H. Major diseases of Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*) with focus on current status in Arba Minch Crocodile ranch, Ethiopia. Online J. Anim. Feed Res. 2020; 10(3): 98-110.
  7. Venter M, Kelly A, Boffart K, Pretorius R., Younus A. African Nile Crocodile bite of forearm: A case report. East African Orthopedic Journal. 2020; (14) 2: 102-107
  8. AVECAL. Manual para la producción y uso ético de los animales de laboratorio. Gobierno Bolivariano de Venezuela. 2008;
  9. Morales A, Lamprea A, García A, Méndez A. La necropsia en campo: un servicio agregado en la medicina veterinaria rural. Rev. Med. Vet. [online]. 2017; (34) 1:167-180.
  10. Koneman, E.; Allen, S., Janda, W. Diagnóstico microbiológico. Texto Atlas (7ma Ed). Editorial Lippincott Williams and Wilkins. Wolters Kluwer health. Buenos Aires-Argentina. 2017; p. 1956.
  11. Mac Faddin, JF. Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina. 1980. p 302
  12. Erazo C, Nuñez Y, Gonzáles-Ore V Capuñay-Becerra C. Enterobacterias y su resistencia antimicrobiana en el caimán blanco (*Caiman Crocodilus*) de vida libre en el río Madre de Dios Tambopata-Perú N. Revista Lat. De Rec. Nat. 2016; 12(2):53-59.
  13. Androleotti O, Budka H, Buncic, S, Colin P, Collins J, Koeijer A, et al. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a Request from the European Commission on public health risks involved in the human consumption of reptile meat. The EFSA Journal. 2007; 578, 1-55.
  14. Sepúlveda, M., Del Piero, F. Wiebe, J. Rauschenber, H., Gross, T. Necropsy Findings In American Alligator Late-Stage Embryos And Hatchlings From North central Florida Lakes Contaminated With Organochlorine Pesticides. J Wildl Dis, 2006; 42, 56-73.
  15. Aguillón, D., Lazcano D., Ramírez, R., Aguirre, R., Zarate, R. y Wong, A. Bacterias cloacales y evaluación física de la herpetofauna del Parque Ecológico Chipinque. Ciencia UANL. 2007; 2, 168-174.
  16. Williams P, Mitchell W, Wilson G, and Weldon P. Bacteria in the Gular and Paracloacal Glands of the American Alligator (*Alligator mississippiensis*, Reptilia, Crocodylia). Letters in Applied Microbiology. 1990; 10, 73-76.
  17. Pachón D, Pulido C., Moreno C. Aislamiento e Identificación de Microorganismos Entéricos en Muestras Ambientales y Cloacales en *Crocodylus intermedius* y Testudines de la Estación de Biología Tropical Roberto Franco. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. 2009; 57, 23-34
  18. Kuhn, I., Iversen, A., Burman L., Olsson-Liljequist, F., Finn, M. Epidemiology and ecology of enterococci, with special reference to antibiotic resistant strains, in animals, humans and the environment. Int J Antimicrob Agents. 2000; 14, 337-342.
  19. Gorden, R., Hazen, T., Esch, G., Fliermans, C. Isolation of *Aeromonas hydrophila* from the American Alligator, *Alligator mississippiensis*. Wildl Dis. 1979; 15, 239-243.
  20. Autin B, Adams C. Fish pathogens. In: Austin B, Altwegg M, Gosling PJ, Joseph S.(eds.) The Genus *Aeromonas*. John Wiley & Sons, New York. 1996 pp 197-243.
  21. Janda, J., Duffey, P. (1988). Mesophilic aeromonads in human disease: current taxonomy, laboratory identification and infectious disease spectrum. Rev. Infect. Dis. 10, 980-997.
  22. Novak S, Seigel R. Gram-negative Septicemia in American Alligators (*Alligator mississippiensis*). Journal of Wildlife Diseases. 1986; 22, 484-487.

